

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表2002-504525

(P2002-504525A)

(43)公表日 平成14年2月12日 (2002.2.12)

(51)Int.Cl.<sup>7</sup>

A 6 1 K 31/194  
47/48  
A 6 1 P 25/00  
39/06

識別記号

F I

テ-マコ-ト<sup>\*</sup> (参考)

A 6 1 K 31/194  
47/48  
A 6 1 P 25/00  
39/06

4 C 0 7 6  
4 C 2 0 6

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 21 頁)

(21)出願番号 特願2000-533153(P2000-533153)  
(86) (22)出願日 平成11年1月23日(1999.1.23)  
(85)翻訳文提出日 平成12年8月25日(2000.8.25)  
(86)国際出願番号 PCT/EP99/00439  
(87)国際公開番号 WO99/43358  
(87)国際公開日 平成11年9月2日(1999.9.2)  
(31)優先権主張番号 198 07 979. 6  
(32)優先日 平成10年2月25日(1998.2.25)  
(33)優先権主張国 ドイツ (DE)  
(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), JP, US

(71)出願人 アクシーバ・ゲーエムベーハー  
ドイツ連邦共和国デー-65926, フランク  
フルト・アム・マイン  
(72)発明者 ヒルシュ, アンドレアス  
ドイツ連邦共和国デー-91074 ヘルツォ  
ーゲナウラッハ, エグクシュトラーゼ 12  
(74)代理人 弁理士 社本 一夫 (外5名)  
Fターム(参考) 4C076 BB01 CC01 DD37E DD38E  
DD43E DD51E DD66E FF15  
4C206 AA01 GA11 MA02 MA05 NA02  
NA05 ZA01 ZB21

(54)【発明の名称】 デンドリマーフラーレン誘導体、その調製方法、および神経保護剤としての使用

(57)【要約】

本発明は、フラーレンが少なくとも1つのデンドロンに結合しているデンドリマーフラーレン誘導体であって、そのデンドロンまたは各デンドロンが、水溶性を付与するプロトン性基を少なくとも1つ有するデンドリマーフラーレン誘導体に関する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 フラーレンが少なくとも1つのデンドロンに結合しているデンドリマーフラーレン誘導体であって、そのデンドロンまたは各デンドロンが、水溶性を付与するプロトン性基を少なくとも1つ有する、前記デンドリマーフラーレン誘導体。

【請求項2】 水溶性を付与するプロトン性基の数が4を超える、好ましくは20、とくに好ましくは30およびよりいっそう好ましくは40である、請求項1に記載のフラーレン誘導体。

【請求項3】 そのプロトン性基または各プロトン性基が同一または異なり、  
 $-O\ H$ 、 $-COOH$ 、 $-NH_2$ 、 $-SO_3H$ 、 $-PO_3H$ 、 $NR_4^+$ 、 $-NH_2O\ H$ 、  
 $-SO_3NH_2$ （式中、4つの基Rは互いに独立して、各場合において同一または異なり、 $-H$ 、アルキルまたはアリールであつてよい）からなる群から選択される、請求項1または2に記載のフラーレン誘導体。

【請求項4】 そのデンドロンまたは各デンドロンの分岐部位の元素が同一または異なり、 $\gamma$ -アミノトリスカルボン酸、 $\alpha$ -アミノジカルボン酸、 $\alpha-\omega$ -ジアミノカルボン酸、ヒドロキシカルボン酸、酒石酸誘導体、ポリフェノール、ペントースまたはヘキソース型の炭水化物成分およびグリセロール誘導体からなる群から選択される、請求項1～3のいずれか1項に記載のフラーレン誘導体。

【請求項5】 25℃、pH 7における水溶性が1mg/mlを超える、請求項1～4のいずれか1項に記載のフラーレン誘導体。

【請求項6】 第1段階でデンドロンを調製することと、第2段階でこれを付加物を介してフラーレンに結合することを含む、請求項1～5に記載の化合物の調製方法。

【請求項7】 デンドロンを収束合成により調製する、請求項6に記載の方法。

【請求項8】 請求項1～5のいずれか1項に記載の化合物を含む治療を目的とする薬品。

【請求項9】 請求項1～5のいずれか1項に記載の化合物を含む神經保護剤としての薬品。

【請求項10】 治療を施す有機体にフリーラジカルが有害作用を及ぼす疾病的治療用医薬品を製造するための、請求項1～5のいずれか1項に記載のフーレン誘導体の使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

本発明はデンドリマーフラーレン誘導体、すなわち1つまたはそれ以上のデンドロンで置換されているフラーレン誘導体に関する。フラーレンは式  $C_{10}H_{16-m}$  ( $m$ は自然数) の炭素化合物である。これらは、炭素原子の五員環を12および六員環を所望の数(すなわち  $m$ 、 $m$ は少なくとも2である)含む。

## 【0002】

フラーレンのアーチ状外表面およびそれにより生じるπ電子の配列は、フリーラジカルに対する高い反応性をもたらす(参考文献1;明細書の最後に参考文献を列挙する)。このように、 $C_{10}H_{16-m}$  バックミンスター フラーレンは非常に容易にラジカルを付加することが知られている。最高34のメチルラジカルの吸収が記載されており、したがってこれを“ラジカルスponジ”(radical sponge)と名付けることが提案されている(後記参考文献1)。

## 【0003】

生体内のヒドロキシルおよびヒドロペルオキシドラジカルは、多不飽和脂肪酸を好んで攻撃することが知られている。この攻撃は、脂肪酸構造の架橋および重合を引き起こす。したがってフリーラジカルは、生体膜、とくに神経細胞膜の傷害も引き起こす。この神経細胞膜は、その脂質中の不飽和脂肪酸の割合がとくに高いという特徴を有する。このような生体膜の脂質構造に変化が生じる結果、膜透過性の変化、膜輸送機能の変化、膜のバリアー機序(barrier mechanisms)の変化および膜の受容体活性の変化が起こることがあり、これにより神経細胞が死に至る可能性がある。同様に、グルタミン酸受容体の過刺激は酸素のフリーラジカルおよび酸化窒素のフリーラジカルを生成し(後記参考文献2~6)、その結果神経細胞に傷害を与え、特殊な症候群を発生させる(後記参考文献7~10)。

## 【0004】

ラジカル補足剤は有害なフリーラジカルを除去し、抗酸化剤として作用し、神経細胞の傷害および神経膜(neuromembranes)の機能損失(loss of function)を抑制する。したがって、優れたラジカル補足性を備えるフラーレンはとくに、

おそらく神経保護剤として作用し、酸化的変化に対する生体膜の保護に用いることができると言えられる。しかしながら、C<sub>60</sub>フラーレンを溶解する有機溶媒は非常に少なく（ベンゼンおよびトルエンなど）、したがってこれを生体膜に投与することもできない。しかし、C<sub>60</sub>に好適な官能基を付加すると水溶性が向上し、その結果生体系内での抗酸化剤として用いることが可能になると考えられる。最初の肯定的な結果はポリヒドロキシル化C<sub>60</sub>を用いて達成され（後記参考文献11）、in vitroおよびin vivoの両方で神経保護活性を示した三置換合成マロン酸誘導体C<sub>60</sub>[C(COOH)<sub>3</sub>]により、より良い結果が得られている（後記参考文献12）。参考文献12に記載されているC<sub>60</sub>またはD<sub>60</sub>対称を有する2つの異性体の調製は、マロン酸ジエチルを用いてC<sub>60</sub>を3回シクロプロパン化し、加水分解し、続いてクロマトグラフィーによる精製を行うHirsch法（後記参考文献13）により実施された。その2つの被験化合物は、EPR分光法により示すことができたように、フリーラジカルに対し強い親和性を示し、N-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）への暴露、α-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソオキサゾールプロピオン酸（AMPAA）への暴露または酸素／グルコースの停止により誘発される皮質ニューロンの細胞培養の興奮毒性細胞死を阻害した。C<sub>60</sub>対称性誘導体はさらに、血清の停止またはA<sup>+</sup>1-42タンパクへの暴露により誘発される、アポトーシスによる神経細胞死を減少させた。すべての場合において、C<sub>60</sub>位置異性体はD<sub>60</sub>異性体より優れた効果を示した。これは、極性が大きいので、脂質膜透過性能が向上するためと考えることができる（後記参考文献12）。

## 【0005】

ポリヒドロキシ置換フラーレンに比べ、マロン酸誘導体はラジカル補足剤として高い活性を示した。これは、付加の度合いが小さく、この結果、向上した水溶性を同時に伴う比較的大きな反応性表面の供給が多くなるためであった。

## 【0006】

さらに、ポリ（ベンジルエーテル）デンドロンと結合したフラーレンが、後記参考文献17により知られている。しかしながら、これらのフラーレン誘導体は水に溶解しない。同様に、水に不溶のデンドリマーフラーレンが、後記参考文献

19に開示されている。

【 0 0 0 7 】

この従来技術に対し、本発明の目的は、フラーレンまたはフラーレン誘導体の水溶性をさらに向上させると同時に、現在までに知られている場合のようにC<sub>60</sub>の反応性表面を縮小または遮蔽することなく、その結果ラジカル補足性を低下させないことであった。

【 0 0 0 8 】

この目的は、本発明に従い、フラーレンが少なくとも1つのデンドロンに結合しているデンドリマーフラーレン誘導体であって、そのデンドロンまたは各デンドロンが、水溶性を付与するプロトン性基 (protic group) を少なくとも1つ有するデンドリマーフラーレン誘導体により達成される。

【 0 0 0 9 】

好適なプロトン性基は当業者に知られている親水基であり、好ましくは-OH、-COOH、-NH<sub>2</sub>、-SO<sub>3</sub>H、-PO<sub>3</sub>H、NR<sub>3</sub>、-NHOHまたは-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>である。ここで、4つのラジカルRは互いに独立しており、各場合において同一または異なり、-H、アルキルまたはアリールであってよい。-OH、-COOHおよび-NH<sub>2</sub>がとくに好ましい。-COH基を用いることもできる。

【 0 0 1 0 】

本発明によるフラーレン誘導体の25℃、pH 7での水溶性は1mg/m1を超える、好ましくは5mg/m1を超える、とくに好ましくは10g/lを超える、よりいっそう好ましくは20mg/m1を超えていてよい。25℃、pH 10での水溶性は10mg/m1を超える、好ましくは50mg/m1を超える、とくに好ましくは100g/lを超える、よりいっそう好ましくは200mg/m1を超えていてよい。

【 0 0 1 1 】

本発明の意味におけるデンドロンは、構造ユニットとして末端に分岐部位 (branching) を有する、C<sub>60</sub>コアユニットの付加物である。さらに、各場合において、他の末端に同様に枝分かれがある同一または他のサブユニットが、これに結

合することができる。したがって、分岐度によって、もっとも近接する分岐部位の数と、末端の官能基（水溶性）の数も、結果的に2倍、3倍または何倍にもなる。デンドロンの結合の繰り返しにより形成される放射状に対称な各“殻”は、次の世代とよばれる。ラジカルに対しより反応性の高い表面を利用できるようするためには、水溶性に必要なデンドロンをC<sub>n</sub>コアからできるだけ離れた位置に維持し、C<sub>n</sub>コアが“被覆”されるのを防止することが有効と思われる。このことは、第1世代のデンドロンをいわゆる“スペーサー”（spacer）（長さがC<sub>1</sub>～約C<sub>10</sub>、好ましくはC<sub>2</sub>～C<sub>5</sub>の炭素鎖）を介して結合することにより可能になり、この炭素鎖は第1世代の“セパレーター”（separator）として働く。

## 【 0 0 1 2 】

好適な分岐部位はとくに三価または多価の元素で、例えばN-、C-、P-、S<sub>i</sub>または多価分子セグメント（アリール、ヘテロアリールなど）などである。分岐度は好ましくは2～3であり、世代数は1以上10以下であってよい。

## 【 0 0 1 3 】

本発明に従った目的は、従属請求項により好ましく解決する。従属請求項に開示する個々の特徴または多くの特徴は、各場合において、それ自体または組み合わせて、基本的な目的の解決方法を示すこともでき、個々の特徴を請求項のカテゴリ内で所望により組み合わせることもできる。

## 【 0 0 1 4 】

上記でさらに述べた例に比べ、フラーレンのモノ付加物（monoadducts）は、その水溶性が十分に高い場合、改良点と考えられる。フラーレンの付加の度合いが小さいほど、フリーな反応性表面（free reactive surface）は大きくなり、この表面がラジカル補足性をもたらすようである。しかし、このようなモノ付加物は、親水基の数が相応して減少するため、ポリ付加物に比べ水溶性が劣ると思われる。この矛盾点は、本発明に従ったフラーレンにより解決される。これは、このフラーレンは、さらに外側により高い世代の分岐部位があるので、水溶性もまた所望により高くなっているためである。

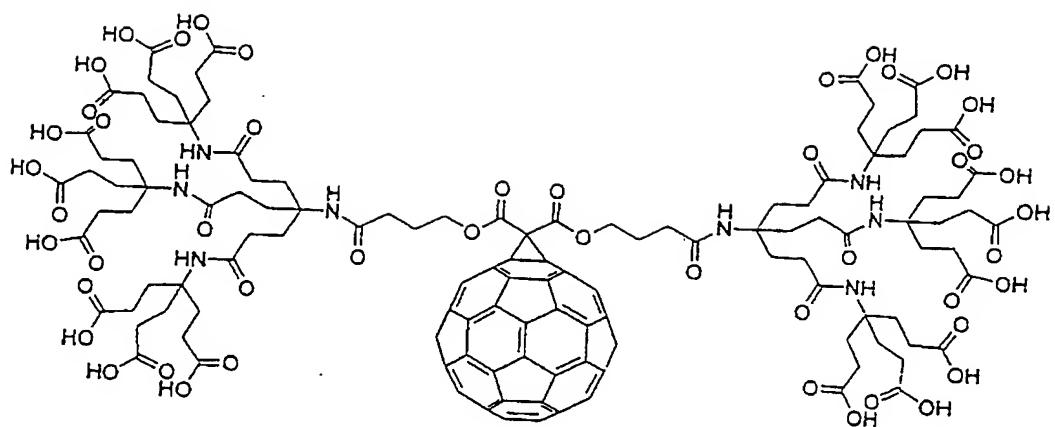
## 【 0 0 1 5 】

好ましい化合物を式1（スキーム1）に示す。これは、C<sub>n</sub>-フラーレンのデ

ンドリマーー分岐誘導体に関する。このタイプの一置換デンドリマーは有利であり、末端に好適な官能基を選択すると、付加の度合いに関係なく優れた水溶性を維持する。溶解性に寄与するデンドリマー最外殻の官能基の数はさらに、分岐度およびデンドロンの世代数（上項参照）により特定される。個々の分子エステルの分岐部位の元素は、とりわけ好ましくは $\gamma$ -アミノトリスカルボン酸（式1に示すタイプ）、 $\alpha$ -アミノジカルボン酸、 $\alpha-\omega$ -ジアミノカルボン酸、ヒドロキシカルボン酸、酒石酸誘導体、ポリフェノール、ペントースおよびヘキソース型の炭水化物成分、グリセロール誘導体ならびに一般的な多官能化合物であつてよい。さらに、個々のデンドリマーの枝部位（branches）または個々の世代の連続的な結合は、酸アミド化合物、ペプチド化合物、エステル結合、アミノ酸およびヒドロキシ酸のさまざまな酸アミドまたはエステル結合の性質に従ったデブシペプチド様結合、グリセリド様結合およびポリエステルまたはポリエーテル、ポリフェニルエーテルならびにグリコシドに対応する。遮蔽による、フリーなフラー表面の有害作用が、第3世代のデンドリマー殻の場合にのみ予想される。しかしこの遮蔽は、小さなフリーラジカルを容易に透過させるため、必ずしも抗酸化活性を低下させなくてもよい。炭素原子数が2～6の好適な長さのスペーサー鎖を選択することにより、さらにフラー表面の有用性を変化させるか、または確実にすることができる。個々の枝部位に脂肪酸の長鎖を用いるとさらに、二分子膜内の脂質の脂肪酸鎖に対する親和性をもたらすことができるので、神経膜のインターラーションを改善し、ラジカル補足性を改良することができる。

【 0 0 1 6 】

【 化 1 】



スキーム 1

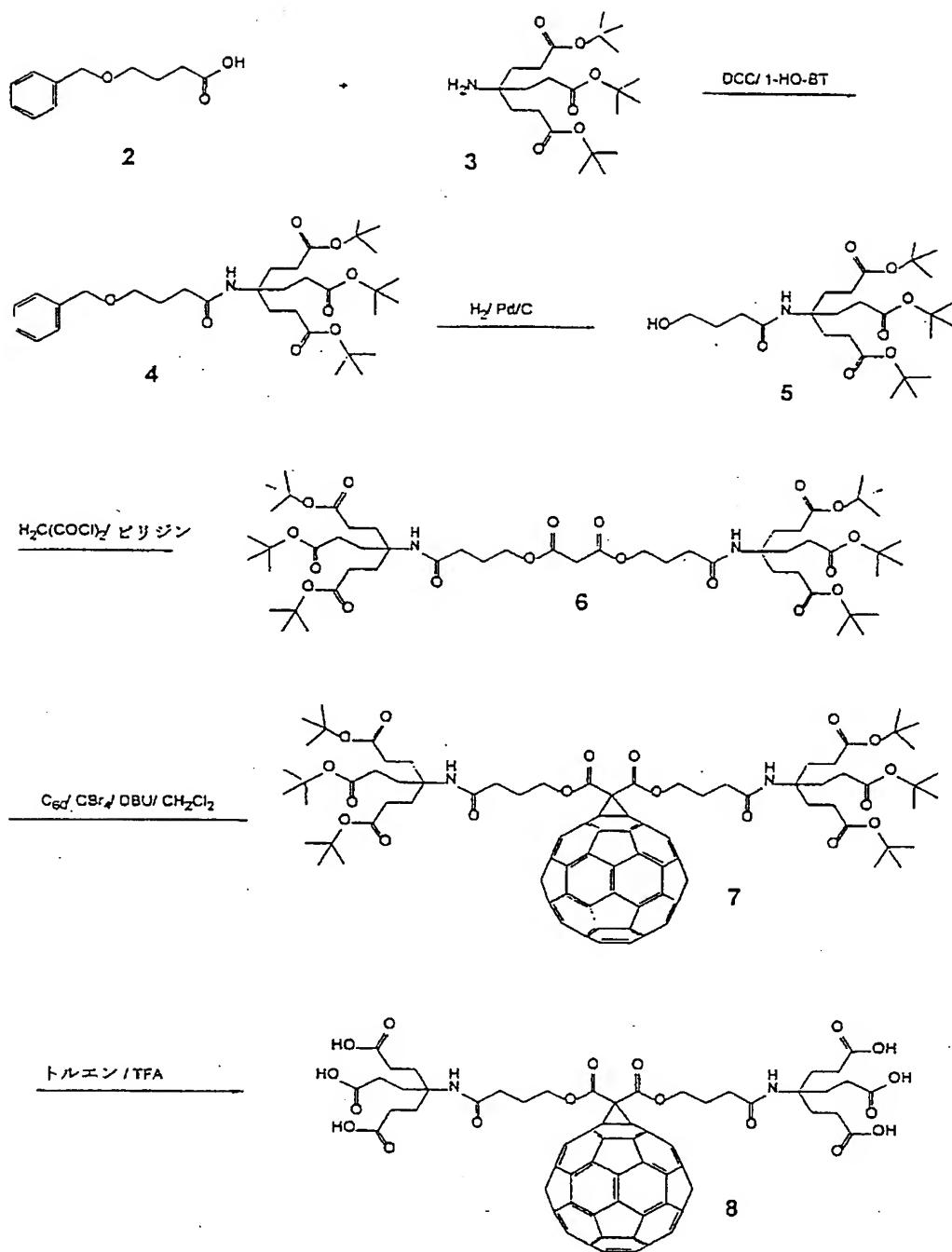
【 0 0 1 7 】

標的化合物の調製は、収束合成 (convergent synthesis)、すなわち相応するデンドリマーの枝部位を別個に第 1、第 2、第 3 または第  $n$  世代まで合成し、最後に好適な結合反応（例えばシクロプロパン化、ディールスーアルダー反応、[3+2] 付加環化など）により  $C_{60}$  フラーレンと結合させることにより行われる。スキーム 2 に従った第 1 世代のデンドリマーフラーレンの合成（調製例 8 参照）では、O-ベンジルで保護した  $\gamma$ -ヒドロキシ酪酸 2 を、カルボキシで保護した  $\gamma$ -アミノトリスカルボン酸 [ベヘラアミン (Behera amine)、ジ-*t*-ブチル 4-アミノ-4-(2-*t*-ブチルオキシカルボニルエチル) ヘプタンジオエート 3 (後記参考文献 14、15、18)] と、縮合剤および活性化剤（例えばジシクロヘキシルカルボジイミド [D C D]、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール [1-OH-BT]、他のカルボジイミド、N-ヒドロキシ化合物など）を用いた反応により縮合する。ここで得られる酸アミド [ジ-*t*-ブチル 4-(4-ベンジルオキシブチリルアミノ)-4-(2-*t*-ブチルオキシカルボニルエチル) ヘプタンジオエート 4] は、水素化分解または特別な穏やかな加水分解により脱保護することができ、この過程でカルボキシル官能基の保護基に影響を与えることなく、遊離したヒドロキシ酸アミド [ジ-*t*-ブチル 4-(4-ヒドロキシブチリルアミノ)-4-(2-*t*-ブチルオキシカルボニルエチル) ヘプタンジオエート 5] を得ることができる。二塩化マロニル (malonyl dichloride) およびピリジンまたは他の窒素塩基を用いた化合物 5 の後の反応により、第 1 世代

のデンドロン 6 [カスケードポリマーの命名 : 6-カスケード : メタン [2] : (2-アザ-7-オキサ-3, 8-ジオキソオクチリジン) : t e r t - プチルプロパノエート] が生成する。これは、アミド様デンドロン結合ならびに、分岐ユニットとマロン酸エステル残基との間の長さ C<sub>1</sub> のスペーサー鎖を有する、マロン酸ジアルキルエステルである。相応する他のベンジルで保護した  $\omega$ -ヒドロキシカルボン酸 2 (例えば 3-ヒドロキシプロピオン酸、5-ヒドロキシ吉草酸または 6-ヒドロキシヘキサン酸など) を選択することにより、スペーサー鎖を所望のように短縮または延長することもできる。この後、われわれが記載した方法に従い (後記参考文献 16) 、C<sub>1</sub> を CBr<sub>4</sub> および DBU / 塩化メチレンの存在下でシントン 6 を用いてシクロプロパン化することができる。得られるデンドリマーフラーレン [6-カスケード : メタノ-C<sub>1</sub>-フラーレン [2] : (2-アザ-7-オキサ-3, 8-ジオキソオクチリジン) : t e r t - プチルプロパノエート 7] の t e r t - プチル保護基は、好ましくは辛酸を用いて、加水分解により容易に除去することができ、その結果、神経保護剤として用いることができる水溶性ポリカルボキシ官能化 (polycarboxyfunctionalized) デンドリマーフラーレン 8 が得られる。[6-カスケード : メタノ-C<sub>1</sub>-フラーレン [2] : (2-アザ-7-オキサ-3, 8-ジオキソオクチリジン) : プロパン酸]

【0018】

【化2】



スキーム 2

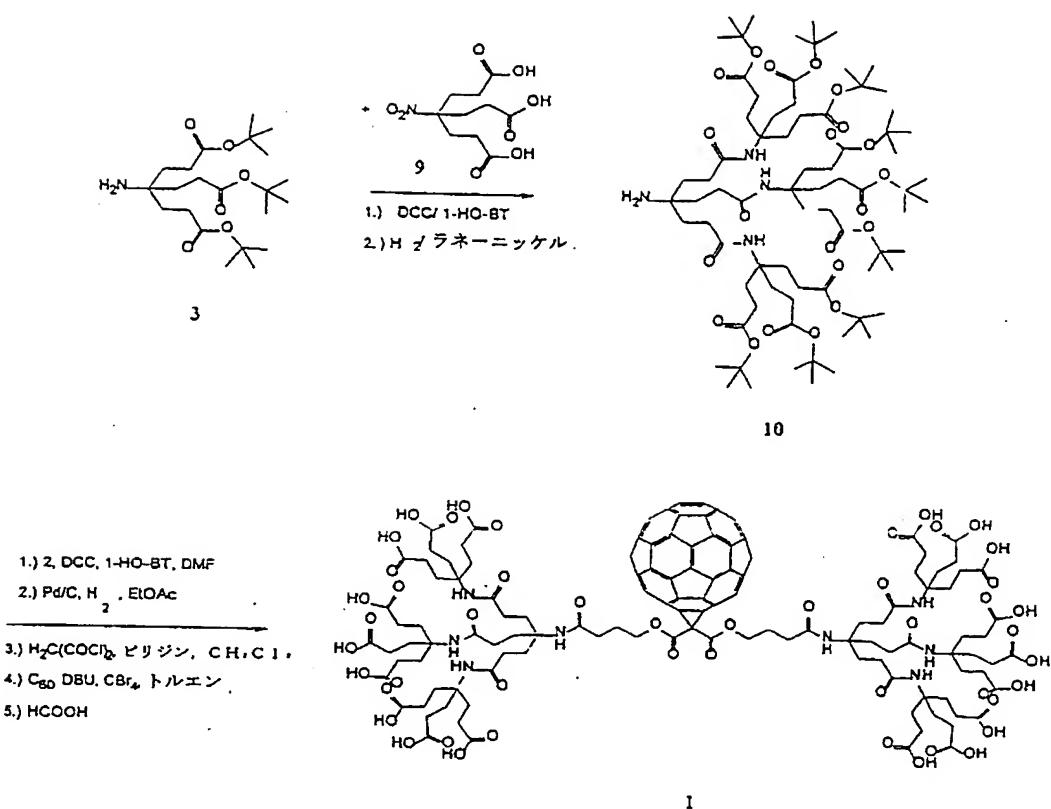
【 0 0 1 9 】

第 2 世代のデンドリマーフラーレン 1 [ 18-カスケード : メタノ- $\text{C}_{60}$ -フラーレン [ 2 ] : ( 2-アザ-7-オキサ-3, 8-ジオキソオクチリジン) : ( 2-アザ-3-オキソベンチリジン) : プロパン酸 ] ( 調製例 1 参照 ) を、ス

キーム 2 に示す第 1 世代の誘導体 8 の合成と類似の方法で調製した (スキーム 3)。第 1 世代の場合と同様に、tert-ブチルで保護した  $\gamma$ -アミノトリスカルボン酸 3 を、tert-ブチルエステルが化合物 3 の合成前駆体となる (15, 16) 適切なニトロトリスカルボン酸 9 と 1HO-BT の存在下で DCC を用いて反応させ、続いて水素を用いて第 2 世代のデンドロン 10 [9-カスケード : アミノメタン [3] : (2-アザ-3-オキソベンチリジン) : tert-ブチルプロパノエート] に還元する。化合物 8 の調製と類似の反応により、スペーサー 2 との結合、相応するマロン酸ジエステルの生成およびシクロプロパン化が起こり、カルボキシルで保護したデンドリマーフラーレン誘導体が得られる。類似の方法で保護基を除去すると、第 2 世代のデンドリマーフラーレン 1 が得られる。後者は、すでに水 (pH > 7)、MeOH および他の極性溶媒中で非常に容易に溶解する。前記化合物の 25°C、pH 7 の水に対する溶解性を測定した結果、約 34 mg / ml であった。pH 10 での溶解性は約 250 mg / ml であった。

【0020】

【化3】



スキーム 3

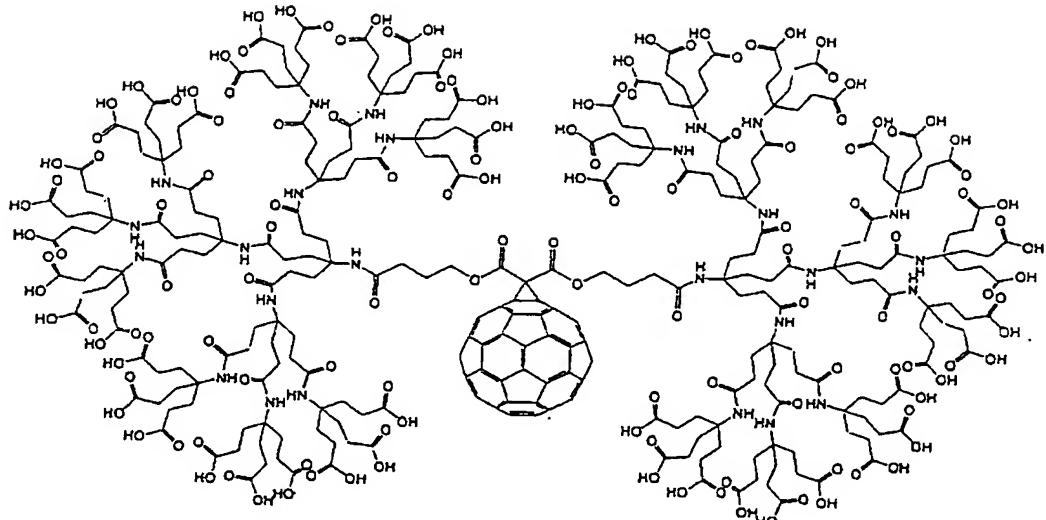
【 0 0 2 1 】

アミノ誘導体 10 とニトロトリスカルボン酸 9 との間での第 3 の縮合反応により、第 3 世代のデンドロン 11 [27-カスケード：アミノメタン [3] : (2-アザ-3-オキソベンチリジン)<sup>2</sup> : *tert*-ブチルプロパンエート] が得られる。これもまた、スペーサーを延長することにより、第 3 世代のシクロプロパン化試薬 12 に転化することができる。前記条件下でフラーレン  $\text{C}_{60}$  に付加すると、 $\text{C}_{60}$  をコアユニットとする第 3 世代のデンドリマー 13 が得られる。*tert*-ブチル基を脱保護すると、第 3 世代の水溶性デンドリマーフラーレン [54-カスケード：メタノフラーレン [2] : (2-アザ-7-オキサ-3, 8-ジオキソオクチリジン) : (2-アザ-3-オキソベンチリジン)<sup>2</sup> : プロパン酸 14] (スキーム 4) が同様に得られる。これはおそらく特徴的なラジカル補

足性を示し、膜保護性および神経保護性を有すると考えられる。

【 0 0 2 2 】

【 化 4 】



スキーム 4

【 0 0 2 3 】

調製例 :

物質の数字はスキーム 2 に基づき、インデックス a は第 2 世代の適切な化合物を示す。

9 - カスケード : [ N - ( 4 - ベンジルオキシブチリル ) アミノメタン ] [ 3 ]  
: ( 2 - アザ - 3 - オキソベンチリジン ) : t e r t - ブチルプロパノエート 4  
a

4. 5 8 g のアミノカルボン酸エステル 1 0 [ 9 - カスケード : アミノメタン [ 3 ] : ( 2 - アザ - 3 - オキソベンチリジン ) : t e r t - ブチルプロパノエート 1 0 ] , 6 1 8 m g の 4 - ベンジルオキシ酪酸 2 , 6 5 6 m g のジシクロヘキシリカルボジイミド [ D C C ] および 4 3 0 m g の 1 - ヒドロキシベンゾトリゾール [ 1 - H O - B T ] を 5 0 m l の D M F に溶解し、この溶液を室温で 2 4 時間攪拌する。減圧下で溶媒を除去した後、残渣を酢酸エチルで抽出し、冷却した 1 0 % 塩酸、水、1 0 % N a H C O , 溶液および濃 N a C l 溶液で洗浄する。 M g S O , 上で乾燥した後、溶媒を減圧下で除去し、粗生成物をカラムクロマ

トグラフィー (SiO<sub>2</sub>、ヘキサン/酢酸エチル 1:1) により精製する。3.

0.7 g の白色粉末 (60%) 4a が得られる。

9-カスケード: [N-(4-ヒドロキシブチリル)アミノメタン] [3] : (2-アザ-3-オキソペンチリジン) : tert-ブチルプロパノエート 5a

2. 9.7 g の化合物 4a を 100 ml のエタノールに溶解し、この溶液を 100 mg のパラジウム/炭素 (10%) で処理する。反応混合物を室温、常圧で水素化し、触媒を濾過により除去した後、減圧下で濃縮すると、2.66 g (95%) の白色粉末 5a が得られる。

18-カスケード: メタン [2] : (2-アザ-7-オキサ-3,8-ジオキソオクチリジン) : (2-アザ-3-オキソペンチリジン) : tert-ブチルプロパノエート 6a

1. 6 g の化合物 5a および 8.3 mg の無水ピリジンを、保護ガスとしての窒素雰囲気下で 50 ml の塩化メチレンに溶解し、攪拌し、0℃に冷却する。7.3 mg の二塩化マロニルを徐々に加え、この混合物を 0℃ でさらに 2 時間および室温で 12 時間攪拌する。その後、これを 50 ml の塩化メチレンで処理し、水で洗浄する。MgSO<sub>4</sub> 上で乾燥し、カラムクロマトグラフィー (SiO<sub>2</sub>、シクロヘキサン/酢酸エチル) により精製した後、4.25 mg (26%) の生成物 6a が得られる。

18-カスケード: メタノ-C<sub>60</sub>-フラーレン [2] : (2-アザ-7-オキサ-3,8-ジオキソオクチリジン) : (2-アザ-3-オキソペンチリジン) : tert-ブチルプロパノエート 7a

4.25 mg の化合物 6a、9.8 mg の C<sub>60</sub>、4.5 mg の CBr<sub>4</sub> および 2.3 mg の DBU を、窒素雰囲気下で 100 ml の無水トルエンに溶解する。この混合物を室温で 22 時間攪拌した後、溶媒を減圧下で分離し、残渣をカラムクロマトグラフィー により精製する。このとき、最初に未反応 C<sub>60</sub> をトルエンを用いて溶出し、その後生成物の混合物をトルエン/酢酸エチル (1:1) を用いて溶出す。これを HPLC を用いてさらに精製する。1.10 mg (21%) の褐色粉末 7a が得られる。

18-カスケード: メタノ-C<sub>60</sub>-フラーレン [2] : (2-アザ-7-オキサ

- 3, 8-ジオキソオクチリジン) : (2-アザ-3-オキソベンチリジン) :

プロパン酸 1

100 mg の化合物 7a を 15 ml のギ酸に溶解し、室温で攪拌する。反応は 20 時間後に完了する。ギ酸をオイルポンプ減圧 (oil-pump vacuum) により除去した後、70 mg (95%) の赤褐色粉末 1 が得られる。

【 0 0 2 4 】

化合物 1 の分光データ :

【 0 0 2 5 】

【 化 5 】

1:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O} + \text{K}_2\text{CO}_3$ , 25°C)  $\delta$  (ppm) 1.91 (m, 4H), 2.13 (m, 5H), 2.47 (t, 4H), 4.78 (t, 4H);  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O} + \text{K}_2\text{CO}_3$ , 25°C)  $\delta$  (ppm) 23.96, 30.95, 31.18, 31.64, 31.87, 32.06, 52.76, 58.21, 58.40, 67.62, 71.53, 138.56, 141.54, 141.79, 142.37, 143.26, 143.52, 143.58, 144.11, 144.47, 145.07, 145.17, 145.22, 145.26, 145.35, 145.60, 145.71, 165.79, 171.45, 174.51, 175.41, 182.78; FT-IR (KBr)  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3344, 3074, 2925, 2854, 2625 (broad), 1712, 1654, 1542, 1458, 1414, 1268, 1231, 1206, 1103, 908, 814, 669, 527; UV-Vis ( $\text{H}_2\text{O}$ )  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ) 257 (102615), 325 (30477), 425 (2077);

【 0 0 2 6 】

参考文献 :

【 0 0 2 7 】

【 化 6 】

/1/ Krusic, P.J., Wasserman, E., Keizer, P.N., Morton, J.R. and Preston, K.F. (1991), *Science*, 254, 1183-1185.

/2/ Garthwaite, J., Charles, S.L. and Chess-Williams, R. (1988), *Nature* (London) 336, 385-388.

/3/ Dawson, V.L., Dawson, T.M., London, E.D., Bredt, D.S. and Snyder, S.H. (1990), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88, 6368-6371.

/4/ Lafon-Cazal, M., Pietri, S., Culcasi, M. and Bockaert, J (1993), *Nature* (London) 1964, 535-537.

/5/ Dugan, L.L., Sensi, S.L., Canzoniero, L.M.T., Handran, S.D., Rothman, S. M., Lin, T.T., Goldberg, M.P. and Choi, D.W. (1995) *J. Neurosci.* 15, 6377-6388.

/6/ Reynolds, I.J. and Hastings, G.G. (1995) *J. Neurosci.* 15, 3318-3327.

[ 0 0 2 8 ]

[ 化 7 ]

/7/ McGeer, E.G. and McGeer, P.L. (1976) *Nature (London)*, 236, 517-524.

/8/ Rothman, S.M. and Olney, J.W. (1986) *Ann. Neurol.* 19, 105-111.

/9/ Choi, D.W. (1988) *Neuron* 1, 623-634.

/10/ McIntosh, T. Soares, H., Hayes, R. and Simon, R. (1988) *In Frontiers in Excitatory Amino Acid Research*, eds. Cavallo, E.A., Lehman, J. and Turski, L. (Liss., New York) pp. 653-656.

/11/ Dugan, L.L., Gabrielsen, J.K., Yu, S.P., Lin, T.S. and Choi, D.W. (1996) *Neurobiol. Dis.* 3 129-135.

/12/ Dugan, L.L., Turetsky, D.M., Cheng Du, Lobner, D., Wheeler, M., Almli, C.R., Shen, C.K.-F., Luh, T.-Y., Choi, D.W. and Lin, T.-S. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 9434-9439.

/13/ Lamparth, I. and Hirsch, A. (1994) *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1994, 1727-1728.

/14/ Newkome, G.R., Behera, R.K. Moorefield, C.N. and Baker, G.R. (1991) *J. Org. Chem.* 56, 7162.

/15/ Newkome, G.R., Nayak, A., Behera, R.K., Moorefield, C.N. and Baker, G.R. (1992) *J. Org. Chem.* 57, 358.

/16/ Hirsch, A. and Camps, X. (1997) *J. Chem. Soc.; Perkin 1* 1997, 1595.

/17/ Newkome, G.R., Moorefield, C.N., Vögtle, F., *Dendritic Molecules*, VCH Weinheim New York Basle Cambridge Tokyo, 1996.

/18/ Camps, X., Schönberger, H. and Hirsch, A. (1997) *Chemistry Eur. J.* 3, 561.

/19/ J.-F. Nierengarten et al. *Helvetica Chimica Acta* Vol. 80, (1997), 2238-2276.

## [ 国際調査報告 ]

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

b. International Application No  
PCT/EP 99/00439

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 A61K47/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	BRETTREICH, MICHAEL ET AL: "A highly water-soluble dendro'60! fullerene" TETRAHEDRON LETT. (1998), 39(18), 2731-2734 CODEN: TELEAY; ISSN: 0040-4039, 30 April 1998, XP002105119 see page 2731, line 1 - line 2; table 1 ---	1-10
Y	DUGAN, L.L. ET AL.: "Carboxyfullerenes as neuroprotective agents." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 94, 1997, page 9434 XP002105120 WASHINGTON US see figures ---	1-10
		-/--

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 June 1999

Date of mailing of the international search report

06/07/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5918 Patentdienst 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 051 epo nl  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Berte, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

1. National Application No PCT/EP 99/00439
---

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE MEDLINE US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US AN=93115740, KARFUNKEL H R ET AL: "Heterofullerenes: structure and property predictions, possible uses and synthesis proposals." XP002105123 see abstract &amp; JOURNAL OF COMPUTER-AIDED MOLECULAR DESIGN, (1992 OCT) 6 (5) 521-35. JOURNAL CODE: JCB. ISSN: 0920-654X., Netherlands</p> <p>---</p>	1-10
Y	<p>DATABASE MEDLINE US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US ON=98161502, CHEN H H ET AL: "Acute and subacute toxicity study of water-soluble polyalkylsulfonated C6 in rats." XP002105124 see abstract &amp; TOXICOLOGIC PATHOLOGY, (1998 JAN-FEB) 26 (1) 143-51. JOURNAL CODE: TOY. ISSN: 0192-6233., United States</p> <p>---</p>	1-10
X	<p>NIERENGARTEN, JEAN FRANCOIS ET AL: "Macrocyclization on the fullerene core. Direct regio- and diastereoselective multi-functionalization of '60!fullerene, and synthesis of fullerene-dendrimer derivatives" HELV. CHIM. ACTA (1997), 80(7), 2238-2276 CODEN: HCACAV; ISSN: 0018-019X, XP002105121 see tables 7-9, 12, 13</p> <p>---</p>	1
P, X	<p>CARDULLO, FRANCESCA ET AL: "Stable Langmuir and Langmuir-Blodgett Films of Fullerene -Glycodendron Conjugates" LANGMUIR (1998), 14(B), 1955-1959 CODEN: LANGD5; ISSN: 0743-7463, XP002105122 siehe Schema 1</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	1
I		

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		Invention Application No. PCT/EP 99/00439
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	<p>DATABASE CHEMABS CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US DN=128:315602, DAI, LIMING ET AL: "Doping of conducting polymers by sulfonated fullerene derivatives and dendrimers" XP002105125 see abstract &amp; J. PHYS. CHEM. B (1998), 102(21), 4049-4053 CODEN: JPCBFK; ISSN: 1089-5647,</p>	1
1		

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)